

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УО «ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ДОСТИЖЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ, КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ И ФАРМАЦИИ

Материалы 69-ой научной сессии сотрудников университета

29-30 января 2014 года

УДК 616+615.1+378
ББК 5Я431+52.82я431
Д 70

Редактор:

Профессор, доктор медицинских наук В.П. Дейкало

Заместитель редактора:

доцент, кандидат медицинских наук С.А. Сушков

Редакционный совет:

Профессор В.Я. Бекиш, профессор Г.Н. Бузук,
профессор С.Н. Занько, профессор В.И. Козловский,
профессор Н.Ю. Коневалова, д.п.н. З.С. Кунцевич,
д.м.н. Л.М. Немцов, профессор В.П. Подпалов,
профессор М.Г. Сачек, профессор В.М. Семенов,
доцент Ю.В. Алексеенко, доцент С.А. Кабанова,
доцент Л.Е. Криштопов, доцент С.П. Кулик,
ст. преп. Л.Н. Каныгина.

ISBN 978-985-466-694-5

Представленные в рецензируемом сборнике материалы посвящены проблемам биологии, медицины, фармации, организации здравоохранения, а также вопросам социально-гуманитарных наук, физической культуры и высшей школы. Включены статьи ведущих и молодых ученых ВГМУ и специалистов практического здравоохранения.

УДК 616+615.1+378
ББК 5Я431+52.82я431

ISBN 978-985-466-694-5

© УО “Витебский государственный
медицинский университет”, 2014

8,8 – 0,355±0,35 Пкат. При сравнении данных групп между собой достоверных отличий не получено.

Среднее значение БАПНА-амидазной активности сывороток для контрольной группы составило 2,11±0,65 пкат, для группы пациентов с инфекционной патологией – 3,55±1,03 пкат ($p<0,01$). Средняя БАПНА-амидазная активность АЖ для опытной группы была ниже, чем в сыворотке, и составила 0,049 пкат. При делении пациенток на группы с маловодием и без данной патологии уровень БАПНА-амидазной активности сывороток крови в первой группе был достоверно ниже, чем во второй: 3,13±0,23 пкат и 4,35±0,39 пкат соответственно ($p=0,002$). При сравнении БАПНА-амидазной активности сывороток крови у пациентов с маловодием (4,693±1,99 Пкат) и многоводием (2,699±1,44) достоверных отличий получено не было ($p>0,05$).

Выводы.

1. Выявлено, что при беременности, отягощенной маловодием и многоводием, уровень нейтрофильной эластазной активности сывороток крови выше на 70%, чем у беременных без инфекционной патологии, что может служить маркером активности инфекционного процесса.

2. Установлено статистически значимое повы-

шение нейтрофильной эластазы в амниотической жидкости у беременных женщин с инфекционной патологией.

3. Обнаружено повышение уровня БАПНА-амидазной активности в сыворотке крови у беременных с инфекционной патологией, при этом более высокий уровень оказался в подгруппе пациенток с маловодием.

Литература:

1. Савченко, Т.Н. Цитокины и нейтрофильная эластаза при невынашивании беременности при генитальном кандидозе / Т.Н. Савченко, А.Л. Пухальский, Г.В. Шмарина, М.Х. Точиева // Рос. мед. журнал. – 2009. – №3. – С. 20–23.
2. Журнал микробиологии и биотехнологии ISSN 1017 – 7825, 2006. – Т. 16, №8. – С. 1320–24.
3. Методика определения активности эластазы в биологических жидкостях: инструкция на метод, рег. № 66 / Ю.Г. Савкина [и др.]. – 2011.
4. Окулич, В. К. Определение активности эластазы в биологических жидкостях / В.К. Окулич, А.В. Корнилов, Ю.Г. Савкина, С. А. Сенькович // Достижения фундам., клин. медицины и фармации. – 2012. – №67. – С. 100–101.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ДНК КАК МАРКЕРА ЛОКАЛЬНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Коротина О.Л.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. Воспаление активирует распад тканей, в результате которого происходит высвобождение клеточной ДНК. Вследствие этого существует возможность оценки воспалительного процесса по уровню свободной ДНК, которая выходит из клеток при их разрушении.

Для определения ДНК в настоящее время предлагается обширный набор методов, основанных либо на поглощении растворов ДНК в УФО-области, либо на взаимодействии ДНК со специфическими красителями, чаще всего – флуоресцентными.

В последнем случае для выявления комплексов «ДНК-краситель» применяют прямую флуориметрию реакционной смеси, а также ПЦР-анализ в режиме реального времени, капиллярный электрофорез, гель-электрофорез, обращенно-фазовую ВЭЖХ и т.д. Однако вышеперечисленные методы, как правило, требуют дорогостоящего оборудования и реагентов; вследствие этого их использование затруднительно в обычной практике клинико-диагностических лабораторий.

Кроме того, хорошо известно, что основными клетками иммунной системы, участвующими в воспалительных и антимикробных реакциях, являются нейтрофильные гранулоциты. Недавно был описан новый механизм их антимикробного действия. Оказалось, что нейтрофилы после активации выбрасывают во внеклеточное пространство сетеподобные структуры – нейтрофильные внеклеточные ловушки. В их состав входит ДНК, гистоны,

а также различные белки и ферменты гранул. Поэтому можно предположить, что количество ДНК отражает активность нейтрофилов в тканевом воспалении.

Отсюда адаптация метода определения ДНК для ее оценки непосредственно в клиническом материале позволила бы не только установить степень или стадию воспалительного процесса, но и косвенно оценить функциональную активность лейкоцитов.

Целью настоящей работы стала разработка методики качественного и количественного определения ДНК как индикатора воспалительного процесса.

Материал и методы. В качестве флуоресцентного красителя для взаимодействия с ДНК нами был избран этидия бромид исходя из соотношения характеристик «специфичность/чувствительность/стоимость». Колориметрический краситель метиловый зеленый уступает бромистому этидию по чувствительности, а новые высокоактивные флуоресцентные ДНК-красители Sybr Green или PicoGreen существенно превосходят этидий по стоимости.

При выполнении исследования смешивали растворы ДНК в концентрациях от 20 до 0,1 мкг/мл с раствором этидия бромида в концентрации 5 мкг/мл (оба реактива – производства Sigma, США). В контроль включали раствор бромида этидия без ДНК. Измерения флуоресценции проводили на спектрофлуориметре производства ЗАО «Солар».

В случае проведения реакции в 96-луночном полистироловом планшете растворы ДНК в разных концентрациях и бромида этидия смешивались в равных объемах по 0,1 мл непосредственно перед визуализацией. Полученную калибровочную кривую регистрировали с помощью трансиллюминатора UVT-1, оснащенного источниками УФО-излучения с максимумом 312 нм. Цифровое изображение результатов реакции получали с помощью камеры Canon G10 при съемке через оранжевый светофильтр.

Результаты и обсуждение. Нами была получена калибровочная кривая флуоресцентного определения комплекса «ДНК-этидия бромид», по которой определяли предел чувствительности метода. Он оказался равным 0,5-1,0 мкг ДНК/мл.

Визуальную калибровочную кривую, полученную при помощи трансиллюминатора использовали для оценки содержания ДНК в клиническом материале. Определяли содержание ДНК в материале из десневого кармана, полученного от пациентов с хроническим периодонтитом во время амбулаторного стоматологического приема. Оказалось, что концентрация ДНК в содержимом дентального кармана у пациента с заболеванием маргинального периодонта соответствует ~8,0 мкг/мл ДНК согласно визуальной калибровочной шкале.

Полученные данные подтвердились при использовании светодиодной стоматологической полимеризующей лампы в качестве возбуждающего

источника излучения с длиной волны 440-480 нм. При визуализации исследуемых проб ДНК в 96-луночном планшете четко прослеживается градиация интенсивности свечения растворов ДНК различных концентраций. Эти данные в целом соответствовали полученной ранее калибровке с использованием спектрофлуориметра.

Исходя из вышеизложенного, создается возможность использования методики определения концентрации ДНК непосредственно на клиническом приеме врача-стоматолога (т.н. «on-chair» или «point-of-care» test). Для оценки степени активности, тяжести и прогнозирования развития хронического периодонтита на сегодняшний день не существует унифицированных лабораторных тестов, что при большом спектре клинических проявлений заболевания значительно затрудняет раннюю и точную верификацию данной патологии. Предложенная нами модификация метода определения ДНК будет способствовать решению этой задачи.

Выводы.

1. Проведена клиническая адаптация количественной и качественной методики определения ДНК в реакции с бромидом этидия с чувствительностью 0,5 мкг ДНК/мл.

2. Содержание ДНК в содержимом дентального кармана при маргинальном периодонтите составляет ~8,0 мкг/мл.

КАТАЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ IgA ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПЕРИОДОНТИТЕ

Коротина О.Л., Генералов И.И.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. В настоящее время доказано, что поликлональные каталитические антитела (АТ) или абзимы ("abzymes", от англ. – *antibody+enzyme*) регулярно появляются при самых разных аутоиммунных и инфекционных заболеваниях. При этом такие аутоабзимы имеют весьма различную субстратную специфичность – нуклеазную, протеолитическую, оксидоредуктазную.

Текущие исследования абзимной активности в подавляющем большинстве проводятся на каталитических АТ, относящихся к иммуноглобулинам класса G. В первую очередь это обусловлено сравнительной легкостью очистки IgG в сравнении с другими классами иммуноглобулинов. Тем не менее, каталитическая активность иммуноглобулинов других классов (и первую очередь – IgA) изучена совершенно недостаточно, несмотря на то, что общее содержание IgA в организме превышает содержание IgG.

Изучение абзимной активности IgA представляется весьма перспективным, поскольку молекула секреторного IgA может быть более эффективным катализатором по сравнению с IgG, учитывая ее многовалентность (ди- или тример), наличие большого количества сульфгидрильных групп и т.д. От-

сюда возникают возможности новой интерпретации явлений, связанных с местным гуморальным иммунитетом (IgA-опосредованным).

Тем не менее, имеются лишь единичные исследования, посвященные каталитической активности поликлональных IgA. Целенаправленного же исследования различных видов IgA-абзимов, появляющихся в норме или при каких-либо патологических состояниях, до сих пор не проводилось.

Целью исследования явилась характеристика каталитической (ДНКазной, протеолитической, оксидоредуктазной) активности иммуноглобулинов класса A, выделенных из ротовой жидкости здоровых лиц и пациентов с хроническим периодонтитом.

Материал и методы. Всего было выделено 27 проб IgA от пациентов с хроническим простым периодонтитом и 27 образцов IgA от группы здоровых лиц (контроль).

Для очистки IgA из ротовой жидкости применялась методика аффинной хроматографии на сефарозе, конъюгированной с антителами против общих IgA человека (Sigma, США).

Предварительную очистку образцов ротовой жидкости проводили следующим образом. До 8-10